

УДК 617-089.844

**ВЛИЯНИЕ ПЛЕНОК ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ НА ТЕЧЕНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ
IN VIVO БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ**

Е.О. Филиппова, А.Д. Журавлева, Н.М. Иванова

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. Ю.Ю. Крючков

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: katerinabosix@mail.ru

INFLUENCE OF POLYLACTIC ACID FILMS ON *IN VIVO*-INDUCED BULLOUS KERATOPATHY

E.O. Filippova, A.D. Zhuravleva, N.M. Ivanova

Scientific Supervisor: Prof., Dr. U.U. Kruchkov

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: katerinabosix@mail.ru

Abstract. *In this work, the effect of influence of polylactic acid films on in vivo-induced bullous keratopathy was investigated. An analysis of the data showed that the implantation of polylactic acid films into the anterior chamber of eye after in vivo-induced bullous keratopathy does not aggravate the disease process and can be taken into the further development of material for creating a corneal implant from it.*

Введение. В настоящее время одним из перспективным направлений в лечении тяжелого, прогрессирующего заболевания – буллезной кератопатии [1] – является использование полимерных пленок как имплантатов в барьерной кератопластике. Особый интерес представляют биodeградируемые материалы и мультипотентные клетки, способные заместить утраченный пул эндотелиоцитов роговицы, купировать отек, воспалительные явления и восстановить прозрачность роговой оболочки. Роль биodeградируемого полимера сводится в формировании временной подложки для подсаженной на нее культуры клеток. Однако остается открытый вопрос выбор нужного полимера и реакция организма на него, в частности – роговицы.

Несмотря на обилие литературных источников по применению полимолочной кислоты в различных формах изделий в медицине [2], в частности – офтальмологии [3], информации, касаемо влиянию данного полимера на протекание индуцированной буллезной кератопатии при имплантации материала, мало, что определяет цель данного исследования.

Цель исследования – определить влияние γ -стерилизации на свойства тонких пленок полимолочной кислоты и влияния данного материала на течение индуцированной *in vivo* буллезной кератопатии.

Материалы и методы исследования. Эксперименты *in vivo* были выполнены на 14 кроликах породы *Sylvilagus bachmani* массой 2,5-3,0 кг. Работа выполнялась с согласия локального этического комитета (№ 7892 от 13.05.2019 г). В условиях операционной под наркозом 12 животным моделировали буллезную кератопатию путем механического повреждения и удаления эндотелия роговицы одного из глаз. Спустя 2 недели после повреждения роговой оболочки и развития заболевания животные были поделены на следующие группы: 1 группа – группа модели заболевания – животные с воспроизведением

буллезной кератопатии ($n=4$); 2 группа – группа сравнения – животные с индуцированной буллезной кератопатией ($n=4$), которым проводили консервативное лечение в виде инстилляций 0,3% раствора Тобрекса по 1 капле 4 раза в день, препарата 0,01% Баларпана по 1 капле 3 раза в день, закладывания 5% Корнерегеля за нижнее веко по 4 раза в день; 3 группа – основная группа – животные с индуцированной буллезной кератопатией ($n=4$), которым осуществляли имплантацию тонких пленок полимолочной кислоты диаметром 8,0 мм следующим образом. Предварительно с 11 до 13 часов формировали тоннельный разрез на роговице размером 5 мм у лимба, через которой имплантировали материал и подшивали его края к роговой оболочке узловыми швами на 9 и 6 часах нитками 10/00. Тоннельный разрез ушивали непрерывным швом, в послеоперационном периоде закапывали растворы Тобрекса по 1 капле 4 раза в день, препарата 0,01% Баларпана по 1 капле 3 раза в день, закладывания 5% Корнерегеля за нижнее веко по 4 раза в день.

Тонкие пленки из полимолочной кислоты были вылиты путем растворения порошка полимолочной кислоты (PURASORB® PL 10, Нидерланды) в хлороформе (CHCl_3) (Экрос, Россия). Толщина пленок, определялась с помощью оптиметра «ИКВ-3», составила ($15,0 \pm 0,1$) мкм. Стерилизация пленок осуществлялась с использованием гамма-установки «Исследователь №52» с источником радионуклида ^{60}Co дозой γ -облучения – 15 кГр (Si-детектор).

В ходе эксперимента животным проводили наружный осмотр, фото регистрацию визуальных изменений. Выведенных из эксперимента животным выполняли энуклеацию, полученный материал фиксировали для световой микроскопии. Полученные в ходе гистологического исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Подсчет удельного объема сосудов, клеток, щелей между коллагеновыми волокнами осуществлялся при помощи окулярной сетки Автандилова на 50 точек (=100 %), для чего в десяти независимых полях зрения определялось количество определяемых структур, попадающих на строму, вычислялся удельный объем (%).

Для статистического анализа полученных результатов исследований применялся статистический пакет IBM SPSS Statistics 20. Для описания количественных переменных рассчитывались их средние значения, среднеквадратические отклонения, медианы, максимальные и минимальные значения. Различия между группами рассчитывали методом t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Поскольку по многим параметрам распределение не являлось нормальным, для расчетов использовались методы непараметрической статистики. Для оценки исходной сопоставимости сформированных групп для количественных данных применяли критерий Краскела-Уоллиса, для номинальных – точный F-критерий Фишера. Для оценки достоверности межгрупповых различий использовали U-критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. По данным световой микроскопии у животных первой группы отмечались характерные для рассматриваемого заболевания изменения. В переднем эпителии толщиной $50,4 \pm 5,4$ мкм обнаруживались дистрофически измененные эпителиоциты – $23,4 \pm 3$ клеток в поле зрения. Передняя пограничная мембрана была неравномерна по своей толщине. Коллагеновые волокна собственного вещества роговицы местами гидратированы, с повышено извитым ходом, между ними обнаруживались пространства удельным объемом $30,4 \pm 5,3\%$, которые можно расценить как наличие отека в строме роговой оболочки. Задняя пограничная мембрана утолщена, эндотелий отсутствовал. Местами, спустя

месяц после индуцирования заболевания, обнаруживались новообразованные сосуды в собственном веществе роговицы, удельным объемом $5,6 \pm 3,2\%$.

У животных второй группы по данным световой микроскопии толщина переднего эпителия составила $38,5 \pm 5,9$ мкм, что на 11,9% меньше значения первой группы ($p > 0,05$) и 6,3% больше третьей ($p > 0,05$). В собственном веществе коллагеновые волокна имели умеренно повышенный извитой ход, удельный объем щелей между ними составил $28,3 \pm 6,4\%$, $p > 0,05$. Как и в первой, третьей группах в строме роговицы второй группы встречались новообразованные сосуды удельным объемом $5,1 \pm 3,3\%$, $p > 0,05$.

У животных третьей группы передний эпителий толщиной $32,2 \pm 4,6$ мкм представлял собой пласт эпителиоцитов, $p < 0,05$. Собственное вещество роговицы представлено коллагеновыми волокнами, между которыми визуализировались пространства-щели удельным объемом $22,1 \pm 3,7\%$, что на 8% меньше значения первой группы. Местами встречались тонкостенные сосуды удельным объемом $6,8 \pm 2,5\%$, $p > 0,05$. Ближе к задней пограничной мембране наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация, удельным объемом $\sim 3\%$.

Согласно полученным данным, в группе животных с имплантированной в переднюю камеру пленкой ПМК образуются новообразованные сосуды и инфильтрируются ближе к задней пограничной мембране лейкоциты удельным объемом не более 3%. Лейкоцитарная инфильтрация является реакцией роговицы на искусственный материал, а также свидетельством протекания первичной альтерации – воспалительного процесса вследствие индуцирования заболевания. Появления сосудов – еще один признак течения воспаления в роговой оболочке, вызванное буллезной кератопатией. Причем, сосуды объемом до 6% встречались во всех группах с индуцированным заболеванием. Имплантация материала не способствовала увеличению удельного объема тонкостенных сосудов.

Заключение. Имплантация пленок ПМК в переднюю камеру при буллезной кератопатии не усугубляет процесс заболевания и может быть принят в дальнейшую разработку материала для создания из него роговичного имплантата.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-415-703005.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Heeren T., Holz F. G., Löffler K. U. Bullous keratopathy // *Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 110. – P. 1069 – 1072.
2. Ershuai Z., Chuanshun Z., Jun Y., Hong, S., Xiaomin Z., Suhua L., Yonglan W., Lu S., Fanglian Y. Electrospun PDLA/PLGA composite membranes for potential application in guided tissue regeneration // *Materials Science and Engineering*. – 2016. – Vol. 58. – P. 278 – 285.
3. Sangsanoh P., Waleetorncheepsawat S., Suwantong O., Wutticharoenmongkol P. *In vitro* biocompatibility of schwann cells on surfaces of biocompatible polymeric electrospun fibrous and solution-cast film scaffolds // *Biomacromolecules*. – 2007. – Vol. 8, № 5. – P. 1587 – 1594.